台灣葡萄皮爾斯病及媒介昆蟲研究現況

蘇秋竹 [1,3] 石憲宗 [2,4] 林映秀 [1] 蘇文瀛 [1] 高清文 [1]

[1]行政院農業委員會農業藥物毒物試驗所應用化學組
[2]行政院農業委員會農業試驗所應用動物組
[3] 病害通訊作者 e-mail: auba@tactri.gov.tw
[4] 蟲害通訊作者 e-mail: htshih@tari.gov.tw

摘 要

葡萄皮爾斯病 (Pierce’s disease, PD) 爲國際檢疫病害，是由棲息導管細菌 *Xylella fastidiosa* 所引起，台灣往昔並無紀錄。行政院農業委員會動植物防疫檢疫局 (Bureau of Animal and Plant Health Inspection and Quarantine, 以下簡稱防檢局 (BAPHIQ)) 在 2002 年針對國內是否存有 PD，啓動偵測調查 (detection survey)，歷年來透過分離技術及 PCR 檢測確認及剷除的 PD 罹病株約有 12023 棵，另確認雙輪瓜 (*Diplocyclos palmatus* (L.) C. Jeffrey)、漢氏山葡萄 (*Ampelopsis brevipedunculata* (Maxim.) Trautv var. *hancei* (Planch.) Render)、葎草 (*Humulus scandens* (Lour.) Merr.) 及白匏仔 (*Mallotus paniculatus* (Lam.) Muell. -Arg.) 也是 PD 的寄主植物；在媒介昆蟲的研究部分，透過柯霍氏法則確認白邊大葉蟬 (*Kolla paulula* (Walker)) 爲台灣 PD 的媒介昆蟲，歷年來的野外調查則未發現國外已記錄可傳播 PD 的媒介昆蟲。分析國內各地 PD 葡萄菌株、媒介昆蟲白邊大葉蟬體內菌株與 4 種雜草寄主植物體內菌株，進行 16S rRNA 與 16-23S rRNA 區間序列基因解序，並與 *X. fastidiosa* 不同植物寄主菌株比對，寄主包含台灣的梨樹與國外的葡萄、桑椹、李、核桃、無花果及夾竹桃等，再利用最大似然法 (Maximum Likelihood) 親緣樹狀圖的分析，結果顯示各地區植物體內的 *X. fastidiosa* 菌株，可分爲五個菌群：第一群爲葡萄與桑椹菌群，第二群爲咖啡與柑橘菌群，第三群爲胡桃、李、桃及無花果菌群，第四群爲夾竹桃菌群，第五群爲梨菌群；而台灣的葡萄、雜草寄主與蟲媒體內的 PD 菌系，應該屬於第一群，且兩者的基因序列相似度達 99-100%，幾可確認具有同源性。未來台灣應積極防杜國外已知蟲媒藉由種苗植物入侵，並持續偵測調查 PD 在台灣的寄主植物範圍與本土性的媒介昆蟲，以探討兩者在 PD 流行病學所扮演的角色。

關鍵詞：葡萄皮爾斯病，棲息導管細菌，雜草寄主，媒介昆蟲

前 言

台灣葡萄栽植主要集中在中台灣 4 個地區，據農業年報統計栽植面積達 3,200 餘公頃，分布在苗栗縣、台中市、彰化縣、南投縣及其他零星地區，生產之葡萄主要供鮮食用，如巨峰、義大利、蜜紅與無子喜樂；少部分作爲釀酒材料，

如金香、黑后與貝利 A 等品種。由於鮮食葡萄面對進口水果具有較高的競爭力，其栽植面積有逐漸增加之趨勢，爲台灣高產值的重要栽經濟果樹之一。

傳統上，葡萄理論栽培緯度在南北緯 34° 到 49° 之間，台灣緯度較不適宜栽植，但因栽培與管理技術的改進，發展出一年二收或一年三收的生產模式 (林, 2004)。台灣葡萄的生產模式可大致區分爲平地葡萄園及坡地葡萄園，在彰化地區之平地葡萄園由於地下水位較高，一般多以自根苗配合條畦密植，除了一部分利用簡易設施提早產期者外，一般多在 6-7 月及 12 月分別採收夏果及冬果。在苗栗、台中及南投地區之坡地葡萄園則以栽植嫁接苗且採寬行疏植爲主，其產期除了南投縣信義鄉部分葡萄園以一年三收技術生產晚春果及秋果之外，一般多在 7-8 月及 12-2 月間分別採收夏果及冬果。

葡萄皮爾斯病 (Pierce's disease；簡稱 PD) 由棲息導管細菌 *Xylella fastidiosa* (Wells *et al.*, 1987) 所引起，病原細菌侵入葡萄後，能快速增殖建立其族群，會系統性移動並分布於寄主維管束組織之導管內 (Hill & Purcell, 1995; Purcell, 1997)，依栽培品系感病性之差異，危害之葡萄 1 至 5 年後即會死亡 (Smith *et al.*, 1997; Varela *et al.*, 2000)，PD 會影響葡萄之正常生育，其形成之病徵包括葉緣壞疽焦枯、提早落葉、新枝不正常老熟、樹勢衰落、延遲萌芽、植株矮化及枝條枯死，目前罹病之植株仍無有有效治療方法 (Blua *et al.*, 1999)，PD 在美國東南地區之葡萄栽植區爲一風土病 (endemic)，一直是該地區葡萄產業之主要限制因子，影響釀酒工業之葡萄栽培及生產甚鉅，亦影響墨西哥、中美洲及美國西南地區部分栽植區之葡萄生產並造成嚴重損失 (Hopkins, 2001)。PD 在加州許多葡萄栽植區域之葡萄園每年皆會發生，在 Napa、Sonoma 及 Mendocina 等郡之商業化栽植之葡萄園皆嚴重發生，一般推測該區域 PD 之流行發生與其蟲媒族群之建立有密切關係 (Purcell, 2000)。PD 亦會影響畜牧之產業，PD 之病原會引起苜蓿矮化病，造成苜蓿之嚴重減產 (Hewitt *et al.*, 1946)。本文爲首次正式論述台灣葡萄皮爾斯病與媒介昆蟲研究現況，期能提供國內葡萄生產業者參考，減緩本病對國內葡萄產業之衝擊。

葡萄皮爾斯病發生現況

PD 爲國際檢疫病害，目前全世界有紀錄受 PD 危害的區域主要集中在美洲地區，在北美州包括美國阿拉巴馬、加州、佛羅里達、喬治亞、密蘇里、路易斯安納、北卡羅來納、南卡羅來納和德克薩斯等州 (Smith *et al.*, 1997; Varela *et al.*, 2000)；中美洲包括哥斯達黎加 (Aguilar *et al.*, 2008; Smith *et al.*, 1997) 和委內瑞拉 (Jimenez, 1985)；南美洲包括阿根廷 (Nome *et al.*, 1992) 和秘魯 (Purcell, 1997)；1998 年南斯拉夫 Kosova 地區的葡萄園出現 PD 危害，爲歐洲發生 PD 危害的首例 (Berisha *et al.*, 1998)；至於亞洲地區，2000 年在中國大陸的陝西省禮泉、乾縣及蒲城等地區發生 PD 疫情 (楚, 2001)。PD 於 1892 年首次發現在美國加州南部地區，爾後被命名加州葡萄病 (Califonia vine disease)，至今一直是美國東南地區葡萄產區之風土病；PD 在加州曾藉由人爲攜入而發生，本病可能廣泛分佈於加州地區而未被發現？主要受限於該區域之 PD 寄主範圍仍未完全被發現，且

各郡間進一步檢測是否有 PD 危害之計畫，仍未完全實行 (Hopkins, 2001)。

自 2002 年防檢局針對國內是否存在 PD 啓動偵測調查 (detection survey)，調查區域涵蓋南投縣、台中市、彰化縣及苗栗縣等 4 縣市之葡萄產區，南投縣包括信義鄉、水里鄉、集集鎮、竹山鎮、草屯鎮及埔里；台中市包括豐原區、石岡區、東勢區、后里區、外埔區、新社區；苗栗縣包括卓蘭鎮及通霄鎮；彰化縣包括二林鎮、埔心鄉、大村鄉及溪湖鎮；歷年來鄉鎮市葡萄產區幾已全面性調查完畢，所有調查之果園防檢局疫情資訊中心皆已建立完整之 GIS 圖檔；自 91 年葡萄夏果期至 99 年葡萄冬果採收期前上述之葡萄產區累計共調查 7388 個果園數，面積共達約 4142 公頃，歷年來發現 10 個鄉鎮葡萄產區共 311 個罹病園共達 12023 株 PD 罹病株，包括草屯鎮平林里 23 個罹病園 167 株罹病株、竹山鎮社寮里 36 個罹病園 1116 株罹病株、集集鎮 1 個罹病園 80 株罹病株、豐原區 2 個罹病園 3 株罹病株、東勢區明正里 3 個罹病園共 21 株罹病株、新社區白毛台及復興村 20 個罹病園 368 株罹病株、外埔區 40 個罹病園 992 株罹病株、后里區 150 個罹病園 6920 株罹病株、卓蘭鎮苗豐里及內灣里 9 個罹病園 876 株罹病株及通宵鎮 27 個罹病園 1480 株罹病株 (表 1)。

表 1.　91-99 年各鄉鎮葡萄產區監測到葡萄皮爾斯病發生之罹病株及罹病果園數
Table 1. Survey results of Pierce's disease incidence: total numbers of diseased plants and orchards in various counties conducted from 2002 to 2010

縣市	鄉鎮	罹病果園數/罹病株																		
		91夏果	91冬果	92夏果	92冬果	93夏果	93冬果	94夏果	94冬果	95夏果	95冬果	96夏果	96冬果	97夏果	97冬果	98夏果	98冬果	99夏果	99冬果	罹病果園數/罹病株
南投縣	草屯鎮	1/1	3/9	5/7	6/17	4/16	2/2	3/7	6/8	3/11	3/5	5/6	0	3/19	2/3	9/25	3/15	7/13	3/3	23/167
	竹山鎮	0	1/1	1/5	1/1	1/4	0	1/3	0	0	0	4/30	2/5	4/52	1/1	29/693	9/60	20/221	4/40	36/1,116
	集集鎮	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1/65	1/15	0	0/0	1/80
台中市	豐原區					1/1	0	1/1	0	0	0	0	0	1/1	0	0	0	0	0/0	2/3
	東勢區			1/7	1/2	1/1	0	2/5	0	0	1/1	0	0	1/1	0	0	0	1/4	0/0	3/21
	新社區		1/2	2/5	3/9	0	0	2/2	1/11	4/25	1/1	3/7	0	7/53	3/11	13/119	4/11	14/106	2/6	20/368
	外埔區					13/128		8/84	1/3	7/102	3/28	7/41		12/301		12/160		16/145		40/992
	后里區					21/187		42/1341		38/576	7/71	43/501		68/1649		96/1,732		57/863		150/6,920
苗栗縣	卓蘭鎮				3/4	2/5		2/167	3/121	2/93	2/67	1/20	2/10	6/231	4/22	6/100	0	3/32	2/4	9/876
	通霄鎮					9/246		18/599		12/107		9/113		12/131		14/150		9/81	11/53	27/1,480
合計		1/1	5/12	9/24	14/33	52/588	2/2	79/2,209	11/143	66/914	17/173	72/718	44/15	114/2,438	10/37	180/3,044	17/101	127/1,465	22/106	311/12,023

綜合中部 4 縣市各鄉鎮區葡萄產區地毯式偵測調查分析，有 PD 發生鄉鎮區之葡萄產區，罹病園分布地理特性可歸納爲二：(一) 位於丘陵地形的栽植園：典型的代表爲通宵鎮、后里區及外埔區的葡萄產區；(二) 緊鄰於山溝或河川地的栽植園：典型代表爲卓蘭鎮苗豐里及內灣里、新社區白毛台及復興村、東勢區明正里、草屯鎮平林里及竹山鎮社寮里，由地理特性顯示罹病園多位於產區的邊緣地帶或獨立栽植園，也許罹病園鄰近地區存在許多未開發雜林及周遭植物相豐

富，有利 PD 病原菌及本土媒介昆蟲的殘存，上述 8 個鄉鎮葡萄產區爲 PD 發生的高度風險區；南投縣信義鄉、水里鄉及台中市石岡區等葡萄產區，過去已全面性偵測的結果顯示尚無 PD 發生，不過由於這類產區葡萄栽植園的鄰近地形具有上述產區 PD 發生的相似地理特性，因此列爲 PD 可能發生的中度風險區，仍需隨時偵測防範 PD 入侵；彰化縣各鄉鎮葡萄產區的栽植面積約 1800 公頃，佔全台第一，歷年來偵測調查及台中區農業改良場偵測通報，該區域葡萄產區迄今未發現 PD 發生，顯見該區域爲 PD 可能發生的低度風險區，推測可能原因包括：(一) 該區域平地葡萄產區盛行集約密植栽培，植物相單純，不利 PD 病原菌及可能蟲媒的殘存；(二) 該區域地下水位高，葡萄栽植園約 7 年即全面更新，不利 PD 罹病株的殘存；(三) 該區域栽植葡萄農民田間衛生執行徹底，園內有植株異常立即更新。

PD 田間調查及觀察顯示栽培的釀酒或鮮食葡萄品系皆能罹病，10 個葡萄產區其中 5 個主要 PD 發生疫區歷年來累計罹病園率分別爲草屯爲 18%、竹山爲 52%、外埔爲 56%、后里爲 85% 及通霄爲 74% (圖 1)。由上述資料顯示 3 個釀酒葡萄品系栽植區通霄鎮、后里區及外埔區爲 PD 嚴重發生及分布區域，但鮮食葡萄品系集中栽植區之疫區 PD 可有效管控且僅零星發生，但發現疫區周遭植被大面積破壞導致鄰近新增葡萄罹病園同時園內感染 PD 葡萄植株明顯增加，竹山鎮社寮里葡萄產區爲典型例子，推論周遭大範圍植被內潛藏廢棄之葡萄園可能有帶有 PD 病菌葡萄植株及雜草寄主，一旦遭人爲破壞，帶菌之蟲媒被迫遷移直鄰近葡萄園，另偶亦發現坡地單獨葡萄栽植園一旦 PD 被引入立足且周圍爲雜林地，罹病園病害明顯擴散蔓延；歷年各季在 10 個鄉鎮葡萄產區偵測及監測到 PD 罹病株，地方縣政府已配合防檢局緊急防疫措施，執行罹病株砍除事宜。

葡萄皮爾病寄主植物偵測調查

引起 PD 之 *X. fastidiosa* 菌株之寄主範圍相當廣，在加州地區曾被記錄超過 28 科涵蓋 94 種類之植物爲其寄主，而其中許多寄主植物不會顯現病徵 (Freitag, 1951; Hill & Purcell, 1995; Purcell & Saunders, 1999b; Purcell, 1997; Raju *et al*., 1983)。許多寄主植物爲天然寄主，例如長葉栲 (*Acacia longifolia*)、通艾 (*Artemesia vulgaris*)、野燕麥 (*Avena fatua*)、臭藜 (*Chenopodium ambrodioides*)、印度白蠟 (*Fuchsia magellanica*)、錐花八仙 (*Hydrangea paniculota*)、義大利黑麥草 (*Lolium multiflorum*)、*Marjorana hortensis*、*Poa annua*, 加州薔薇 (*Rosa California*)、迷迭香 (*Rosemary officinalis*)、葡萄葉懸鈎 (*Rubus vitifolius*)、柳樹屬植物 (*Salix* spp.)、鍬草屬植物 (*Veronica* spp.) 和加州野葡萄 (*Vitis califonica*)等，許多其他之寄主植物利用蟲媒室內試驗已被證實能感染 PD 之病原菌株 (Freitag, 1951; Purcell & Saunders, 1999b; Raju *et al*., 1983)。目前 *X. fastidiosa* 之寄主範圍及來自不同寄主菌株之交互接種試驗之研究，仍未完全清楚 (Simth *et al*., 1997)，僅些許文獻之資

訊可資參考。例如，來自葡萄之 *X. fastidiosa* 菌株不能感染桃 (peach)，同時來自桃之 *X. fastidiosa* 之菌株不能感染葡萄；來自於感染 *Acer*、*Morus*、 *Platanus* 及 *Ulmus* spp. 等植物之 *X. fastidiosa* 菌株無法傳播至葡萄 (Smith *et al.*, 1997)；來自夾竹桃葉緣焦枯病 (oleander leaf scorch) 之 *X. fastidiosa* 菌株無法感染葡萄、桃、黑莓 (blackberry) 或苜蓿 (alfalfa) (Purecll, 1997)；來自杏仁葉緣焦枯病 (almond leaf scorch) 之 *X. fastidiosa* 菌株可傳播至葡萄，相對地，來自之 *X. fastidiosa* 菌株亦可傳播至杏仁 (Purcell, 1980b)。事實上，引起 PD 之 *X. fastidiosa* 菌株在實際上發生之寄主範圍應該有許多寄主植物仍未被偵測證實？一般認爲有些非作物寄主 (non-crop hosts) 可能爲引起 PD 之主要感染源，有潛能傳播病原至葡萄園，其在流行病學扮演之角色仍不甚清楚？(Hill & Purcell, 1995)。

國內葡萄產區引起 PD 之 *X. fastidiosa* 菌株之寄主範圍偵測調查，自 92 年 9 月於東勢鎮明正里葡萄產區 PD 罹病園 (編號東勢-097) 鄰近邊坡地帶首次確認雜草雙輪瓜植物爲 PD 之其他寄主植物後，陸續於 8 個鄉鎮 PD 發生葡萄產區標定罹病園進行其他寄主植物調查及採樣，總共標定 45 個罹病園包括南投縣草屯鎮 4 個、竹山鎮 3 個、台中市東勢區 2 個、后里區 16 個、外埔區 8 個、新社區 5 個、苗栗縣卓蘭鎮 4 個及通宵鎮 3 個；迄今採集除葡萄以外共 238 種植物，總樣品數高達 3,889 個 (表 2)，分布於 72 科、183 屬植物。採集樣品分別進行 PD 病原菌分離及 PCR 檢測，僅其中 4 種類雜草植物，分別爲葎草 (*Humulus scandens* (Lour.) Merr.) (圖 2 A)、漢氏山葡萄 (*Ampelopsis brevipedunculata* (Maxim.) Trautv var. *hancei* (Planch.) Render) (圖 2B)、雙輪瓜 (*Diplocyclos palmatus* (L.) C. Jeffrey) (圖 2C)及白匏仔 (*Mallotus paniculatus* (Lam.) Muell. -Arg.) (圖 2D)；雙輪瓜累計 81 個樣品有 5 個爲正反應，分別在台中市外埔區、東勢區、新社區與苗栗縣卓蘭鎮各得到 2、1、1 及 1 個樣品；漢氏山葡萄累計 120 個樣品有 7 個爲正反應，分別在台中市后里區、外埔區、南投縣竹山鎮及苗栗縣卓蘭鎮各得到 1、4、1 及 1 個樣品；葎草累計 61 個樣品有 9 個爲正反應，分別在苗栗縣卓蘭鎮、台中市后里區及外埔區各得到 1、1 及 7 個樣品；白匏仔截至目前爲止累計 51 個樣品僅在台中市新社區得到一個正反應的樣本，歷年來總計共 22 個樣品經 PCR 檢測爲正反應且成功分離到病原菌 (表 3)；分離自 4 種寄主雜草之 PD 病原菌經人工接種至健康葡萄植株，已確認會在植株內繁殖且會造成典型葉緣焦枯病徵；進一步分析感染 *X. fastidiosa* 寄主雜草的葡萄罹病園內罹病植株分布情況，發現部分罹病園罹病植株分布與鄰近感染 *X. fastidiosa* 雜草寄主似乎有地緣相關性，此一現象間接證實國內葡萄 PD 病害於田間可能藉由本土性蟲媒自然傳播病害。

表 2. 92-99 年葡萄皮爾斯病標定罹病園鄰近調查之植物種類及樣品數

Table 2. Survey results of other possible host plants for *Xylella fastidiosa* Pierce's disease (PD) strains: total numbers of various plant species collected from the proximity of PD-confirmed grape orchards and sample sizes conducted from 2003 to 2010

鄉鎮	標定罹病園數	植物種類/樣品數(年度)								
		92	93	94	95	96	97	98	99	92~99 合計
南投縣										
草屯鎮	4	44/76	72/210	39/52	11/12	9/12	16/26	15/28	ND	72/416
竹山鎮	3	21/27	56/85	ND	ND	7/34	15/30	12/27	9/24	57/227
台中縣										
東勢區	2	69/131	106/290	41/132	ND	29/112	ND	ND	ND	106/665
后里區	16	ND	30/73	31/109	70/245	45/159	37/98	11/19	25/78	68/781
外埔區	8	ND	44/85	20/22	44/75	21/63	22/78	ND	ND	44/323
新社區	5	62/112	94/284	ND	54/138	35/100	14/69	12/20	10/12	61/735
苗栗縣										
卓蘭鎮	4	ND	76/151	39/52	41/149	23/33	27/79	ND	ND	58/464
通霄鎮	3	ND	35/56	36/83	42/79	17/34	17/26	ND	ND	42/278
合計		131/346	205/1,234	92/450	127/698	98/547	78/406	35/94	35/114	238/3,889

ND：標定罹病園未進行調查。

表 3. 92-99 年葡萄皮爾斯病標定罹病園鄰近四種雜草寄主植物採集檢測情形

Table 3. Detection of *Xylella fastidiosa* Pierce's disease (PD) strains in four alternative hosts collected from the proximity of PD-confirmed grape orchards conducted from 2003 to 2010

縣市鄉鎮	偵測罹病園數	雜草名稱*(正反應數/樣品數)			
		葎 草	漢式山葡萄	雙輪瓜	白匏仔
南投縣					
草屯鎮	4	0/3	0/5	0/10	0/3
竹山鎮	2	0/4	1/26	ND	ND
台中市					
東勢區	2	0/8	ND	1/2	ND
新社區	4	0/1	0/28	1/24	1/25
后里區	7	1/19	1/14	0/23	0/13
外埔區	5	7/23	4/28	2/12	ND
苗栗縣					
卓蘭鎮	4	1/2	1/19	1/10	0/8
通霄鎮	1	0/1	ND	ND	0/2
合 計		9/61	7/120	5/81	1/51

ND: 罹病園鄰近未採集到該雜草；*：PCR 及病原菌分離爲正反應之樣品數。

美國與台灣對媒介昆蟲的研究現況

自從西元 1892 年在美國加洲發現葡萄皮爾斯病以來，PD 的分布區域也擴散至中南美洲、歐洲、中國與台灣，但 120 年以來所有與 PD 媒介昆蟲傳病驗

證有關的研究，幾乎都在美國完成，但至今也僅有少數的大葉蟬與沫蟬被證實爲 PD 的媒介昆蟲。台灣在數年之間已自台灣本土所產的 3 種大葉蟬體中偵測出 PD 的分子序列，其中白邊大葉蟬 (*Kolla paulula*) 已完成柯霍氏法則傳病驗，確認爲可傳播 PD 的本土性大葉蟬種類 (Shih & Su, unpublished data)。茲將美國與台灣之研究現況，以及兩國可以互相交流的課題簡述如下：

一、美國研究現況

在美國已被證實可傳播 PD 的媒介昆蟲，包括半翅目 (Hemiptera)、葉蟬科 (Cicadellidae)、大葉蟬亞科 (Cicadellinae) 與沫蟬總科 (Cercopoidea)、尖胸沫蟬科 (Aphrophoridae) 的物種，較具傳病效率的包括褐透翅尖頭葉蟬 (Glassy-winged sharpshooter, *Homalodisca vitripennis* (Germar)) (簡稱 GWSS) (圖 3)、藍綠尖頭葉蟬 (Bluegreen sharpshooter, *Graphocephala atropunctata* (Signoret)) (圖 4)、綠尖頭葉蟬 (Green sharpshooter, *Draeculacephala minerva* (Ball)) (圖 5)、紅首尖頭葉蟬 (Red-headed sharpshooter, *Xyphon fulgida* (Nottingham)) 與黃頭長沫蟬 (Meadow spittlebug, *Philaenus spumarius* (Linnaeus)) (圖 6)。其餘透過室內傳病驗證確認可傳播 PD 的媒介昆蟲尚有 *Amphigonalia severini* DeLong, *Helochara delta* Oman, *Paragonia confusa* Oman 與 *Friscanus friscanus* (Ball) 等 4 種大葉蟬亞科昆蟲；*Aphrophora angulata* Ball 與 *A. permutata* Uhler 等 2 種尖胸沫蟬亞科昆蟲與 1 種鉤沫蟬科 (Clastopteridae) 的 *Clastoptera brunnea* Ball (Redak *et al.*, 2004)。

褐透翅尖頭葉蟬 (GWSS) 爲傳播 PD 最具效力的媒介昆蟲，且被確認可傳播其他寄主之 *X. fastidiosa* 病原菌株，使寄主罹病，包括杏仁葉緣焦枯病、桃矮小病 (phony peach disease)、李葉緣燒枯病 (plum leaf scald)、柑桔斑駁黃化病 (citrus variegated chlorosis, CVC) 和榆樹 (elm)、楓樹 (maple) 等植物病害 (Blua *et al.*, 1999; Hopkins, 1989)。從蟲媒生物學及行爲學觀點而言，GWSS 有許多特性有利其在葡萄園傳播 PD，包括：(1) 本種成蟲相對於其他 PD 的媒介昆蟲而言，具有極佳的飛行能力，自罹病葡萄植株獲菌之後，可長距離的飛行，直接飛入健康園區的內部 (飛行能力較短者，僅能從健康園區外圍慢慢入侵)；(2) GWSS 爲多食性的葉蟬，已紀錄的寄主植物超過 100 種以上 (Hoddle *et al.*, 2003; Redak *et al.*, 2004)，但眞正影響其營養需求的關鍵養分卻爲導管中的特定胺基酸 (如 glutamine 與 asparagine) 與碳水化合物，且成蟲與若蟲利用植物養分的種類與比例，也有不同程度的差異 (Redak *et al.*, 2004)；若成蟲尋找植物前已獲得 PD，在成蟲尋找適合自已養份的寄主植物過程，同時也進行病害的傳播；(3) GWSS 成蟲越冬後仍具感染力，至翌春會感染健康寄主植物 (Purcell & Saunders, 1999b; Varela *et al.*, 2000)，與其他種類葉蟬比較，GWSS 喜歡在葡萄植株較低位置之枝條吸食，意味著 PD 病害之病原能靠近植株主幹組織建立及殘存，較不會被修剪方式而去除病原，這種方式造成園內慢性罹病株之建立，有利植株與植株間之病害傳播，促使病害快速成長；(4) GWSS 在冬天時期會在休眠狀態中之葡萄及核果類植物吸食 (Purcell, 2000)。

二、台灣研究現況

在台灣自從偵測出 PD 以來，作者等在全國各地之葡萄產區調查木質部取食習性的大葉蟬亞科與沫蟬總科昆蟲，結果顯示台灣尚未發現國外 PD 的媒介昆蟲。另針對中部若干罹患 PD 的樣區進行具傳病潛力昆蟲之調查，累計發現 3 種沫蟬與 24 種葉蟬 (Shih *et al.*, 2004; Shih & Su, unpublished data) 爲各地葡萄產區之優勢種類 (在每一調查樣區，每兩週以動植物防疫檢疫局制訂的黃色黏蟲紙調查，平均每年所出現的同種昆蟲樣本超過 200 件標本者)，包括：尖胸沫蟬科 (Aphrophoridae) 3 種 (一點鏟頭沫蟬 (*Clovia puncta* (Walker))，嗜菊短頭脊沫蟬 (*Poophilus costalis* (Walker)) (圖 7D)、與金毛凸額脊沫蟬 (*Ariptyelus auropilosus* (Matsumura))；大葉蟬亞科 (Cicadellinae) 4 種 (白翅褐脈葉蟬 (*Cofana spectra* (Distant)), 白邊大葉蟬 (*Kolla paulula* (Walker) (圖 7A)、黑尾大葉蟬 (*Bothrogonia ferruginea* (Fabricius) (圖 7B)、縱脈斑大葉蟬 (*Anatkina horishana* (Matsunura)) (圖 7C)；角頂葉蟬亞科 (Deltocephalinae) 13 種 (*Tartessus* sp., *Balclutha laevis* (Melichar), *Balclutha saltuella* (Kirschbaum), *Balclutha incisa* (Matsumura), *Hishimonus* sp., *Nephotettix cintriceps* (Uhler), *Nephotettix nigropictus* (Stål), *Goniagnathus punctifer* (Walker), *Macrosteles fascifrons* Stal, *Macrosteles* sp., *Deltocephalus distinctus* Motschulsky, *Deltocephalus* sp., 與 *Yamatotettix* sp.)；葉蟬亞科 (Iassinae) 1 種 (*Batracomorphus* sp.)；緣脊葉蟬亞科 (Selenocephalinae) 1 種 (*Drabescus* sp.)；橫脊葉蟬亞科 (Evacanthinae) 2 種 (*Sophonia orientalis* (Matsumura) 與 *Nirvana placida* (Stål)；小葉蟬亞科 (Typhlocybinae) 3 種 (台灣頂斑小葉蟬 (*Empoascanara formosella* Dworakowska)、楚南氏二點頂斑小葉蟬 (*Empoascanara sonani* (Matsumura)) 及擬頂斑葉蟬 (*Kapsa* sp.))。

以上種類，可自野外獲得的蟲體之內，偵測到 PD 的分子序列者，包括白邊大葉蟬、黑尾大葉蟬與縱脈斑大葉蟬等 3 種，其中白邊大葉蟬已透過柯霍氏法則的傳病驗證程序，確認其爲台灣本土第一種可以傳播 PD 的大葉蟬。除此，嗜菊短頭脊沫蟬的成蟲，可在實驗室完成柯霍氏法則的傳病驗證，但仍無法自野外採獲的本種沫蟬體內偵測出 PD 的分子序列。

Shih *et al.* (2009) 針對白邊大葉蟬 (*Kolla paulula*) 進行族群密度調查、測試與確認寄主植物、分析飛行高度等系列研究，茲將重點簡列如下：(1) 近年來藥試所與農試所兩單位於南投縣竹山與草屯、台中市后里區與新社區等地，以黃色黏蟲紙監測與分析本種葉蟬全年的族群密度，發現本種葉蟬在各地罹病樣區的發生盛期約有 3 次，分別爲 2 月初至 4 月初、7 月初至 8 月底、10 月中旬至 12 月中旬，每次高峰維持約 2 個月，其中 2 月初至 4 月初之平均密度約爲另兩次高峰的 1 倍；(2) 在白毛台以不同吊掛高度 (1-5 m) 的黃色黏蟲紙誘集成蟲，分析白邊大葉蟬的飛行高度範圍，結果顯示本種葉蟬飛行高度以離地 1-2 m 爲主，3-5 m 相對較少；(3) 農試所從事本種葉蟬之寄主試驗，發現本種葉蟬可在小花蔓澤蘭、大白花鬼針、紫花霍香薊及鴨跖草等野外常見雜草上完成繼代發育，其中以小花蔓澤蘭與大白花鬼針草爲其最適寄主。農試所的研究結果也顯示，黑尾大葉蟬、縱脈斑大葉蟬與嗜菊短頭脊沫蟬的共通寄主，也包括大白花鬼針與鴨跖草。這些資料，都有助於擬定田間 PD 媒介昆蟲之防治措施。

三、台灣與美國可以合作的研究課題

美國因擁有 PD 這個本土病害，目前已成爲全球研究 PD 及其媒介昆蟲相互關係與防治管理研究的重鎮，可以提供台灣相當多的研究經驗。不過，美國對於 PD 媒介昆蟲的飼養研究，僅有 2 篇報告分別以大豆或豇豆飼養褐透翅尖頭葉蟬的研究，結果皆顯示這兩種植物並無法完全供應若蟲或成蟲發育所需之完整養分，對於提升雌蟲產卵能力與有效繼代的研究仍有進步的空間。

台灣發現 PD 以來，雖然不到 10 年，但 Shih *et al*. (unpublished data) 已成功發展出以液體養液培養大花咸豐草 (*Bidnes pilosa* var. *radiate*) 及白竹仔菜 (*Commelina diffusa* Burm f.) 等植物，並使白邊大葉蟬的若蟲與成蟲能在同種植物的飼養環境下，完成繼代飼育，培育傳病驗證與各類防治試驗所需的大量材料，此部分是台灣可與美國交流之處。

四、台灣的研究瓶頸

雖然葡萄並非我國的旗艦果樹，但 PD 儼然已成爲台灣葡萄生產之限制因子，過去數年，政府每年持續投入經費剷除感染 PD 的罹病株、支持 PD 與媒介昆蟲的監測以及教育宣導，使得本病在台灣的流行趨勢，得以有效受到管制。

但是，台灣的葡萄栽培方式、主要栽培種類、氣候因子與潛在媒介昆蟲種類等，與美國是處於完全不同的條件。當今，我國對於葡萄皮爾斯病的流行病學、媒介昆蟲之基礎生物學研究、病原與媒介昆蟲的中間寄主、病原與媒介昆蟲的相互關係等研究，因人力與物力的不足，使得不少研究項目的深度不足或甚至一片空白，其根本解決之道，包括籌組研究團隊與支持穩定的研究經費，以落實政府保障農友生產優質農產品的政策；同時，在台灣建立完整的 PD 及媒介昆蟲的研究根基，不僅可爲我國樹立木質部侷限導管細菌及媒介昆蟲的研究模式，更可作爲我國其他蟲媒病害的研究參考，如此才能提供農友有效與安全的 PD 及媒介昆蟲的整合管理技術。

國內葡萄皮爾病菌系鑑定及親緣關係

國內田野 PD 葡萄罹病株待其枝條葉片呈現典型系統性之葉緣焦枯病徵，將罹病枝條葉片之葉柄組織經 1% 次氯酸鈉溶液振盪消毒 10 分鐘，剪取中間部份之葉柄組織切碎溶於 1 ml 之 PD2 培養液，劃線於 PD2 平板上，置於 28℃ 之定溫箱培養觀察二星期後再挑取單一菌落進行更新培養，發現菌落爲邊緣完整之乳白色圓形突起，培養 12 天之菌落大小約 1 mm，本菌經陰染法電顯觀察測得其大小 (寬 × 長）爲 0.2 至 0.4 µm ×1-3 µm；罹病葉柄組織經固定、脫水、包埋程序後，進行超薄切片經電顯觀察顯示維管束組織中之部份導管含有桿狀細菌，該菌具有波浪狀特徵之細胞壁 (圖 8)；自罹病枝條分離之菌株以 *X. fastidiosa* 專一性引子對 RST31/RST33 (Minsavage *et al*., 1994)、272-1-int/272-2int (Pooler *et al*., 1995) 來進行 PCR 反應，結果顯示所分離之 8 個菌株皆可增幅出 733、500 bp 之專一性基因產物片段，且對照其他病原細菌及梨葉緣焦枯病菌則無此片段。同時又以 Agdia 廠商所生產的 Pathoscreen^R XF 之 ELISA Kit 進行測試，顯示

分離自葡萄罹病株之細菌菌株和國外葡萄皮爾斯病菌株有血清之相關性，對照其他病原細菌及梨葉緣焦枯病菌則無；人工接種試驗顯示分離自平林里之細菌菌株對葡萄具有病原性，測試之巨峰、金香、密紅及貝利 A4 個栽培品系皆能罹病。

X. fastidiosa 病原菌寄主範圍廣，已被紀錄危害超過 100 個寄主植物 (Hopkins & Purcell, 2002)，利用交互接種試驗 (Hopkins & Adlerz, 1988; Hopkins, 1989)、培養特性 (Purcell & Hopkins, 1996)、DNA 同源性 (Mehta & Rosato, 2001)、限制片段多型性分析 (RFLPs) (Chen *et al.*, 1992; Hendson *et al.*, 2001)，及隨機增幅多型性核酸 PCR 分析 (RAPD-PCR) (Chen *et al.*, 2002; Hendson *et al.*, 2001; Pooler & Hartung, 1995; Qin *et al.*, 2001; Rosato *et al.*, 1998)，早期將 *X. fastidiosa* 區分爲 4 群，分別爲 PD 群、柑桔斑駁黃化病菌群，李葉緣燒枯病與桃矮小病菌群及夾竹桃菌群 (Hopkins & Purcell 2002; Purcell & Hopkins 1996)，目前在 *Xylella* 這一屬中仍然僅有 1 個種 *X. fastidiosa*，最近有些學者提出將 *X. fastidiosa* 區分 5 個副種 (subspecies) 分別爲 *fastidiosa, multiplex, pauca, sandyi,* 與 *tashke* (Hernandez-Martinez *et al.*, 2007; Randall *et al.*, 2009; Schaad *et al.*, 2004)，*Xyl. fastidiosa* subsp. *fastidiosa* 含有菌系寄主來源爲葡萄、杏仁、苜蓿及楓樹，*Xyl. fastidiosa* subsp. *Multiplex* 含有菌系寄主爲桃、李 (plum)、杏仁、榆樹 、無花果 (sycamore) 及葡萄 (pigeon grape)，, *Xyl. fastidiosa* subsp. *Pauca* 含有菌系寄主爲柑桔，*Xyl. fastidiosa* subsp. *sandyi* 含有菌系寄主爲夾竹桃、忘憂草 (daylily)、藍花楹 (jacaranda) 及木蘭花 (magnolia) (Hernandez-Martinez *et al.*, 2007)，*Xyl. fastidiosa* subsp. *tashke* 含有菌系寄主爲一園藝景觀植物 (*Chitalpa tashkentensis*) (Randall *et al.*, 2009)。

由於 16S rRNA 具有共通性 (原核或眞核皆有核醣體核醣核酸)、演化速率慢、高度保守性、提供足夠訊系等特點，16S rRNA 現已被大量使用於各式各式各樣的微生物親緣訊息研究 (Hauben *et al.*, 1997; Hillis & Dixon, 1991; Mehta & Rosato, 2001; Stackebrandt & Goebel, 1994; Vandamm *et al.*, 1996)。另外，許多微生物的 16S rRNA 由於高度保守特性，基因序列相近造成在分類上有困難度。近年來學者改以基因序列變異度較大的 16S-23S rRNA 區間序列 (intergenic transcribed space, ITS) 來作爲分類的研究 (Chen *et al.*, 2004; Mehta & Rosato, 2001; Perez-Luz *et al.*, 2004)。

爲了解台灣地區 PD 葡萄罹病株、雜草寄主植物及蟲媒所感染之 *X. fastidiosa* 菌株間親緣關係，進行 16S rRNA 序列與 16-23S rRNA 區間序列比對分析，並引用文獻中 *X. fastidiosa* 不同植物寄主菌株比對 (Mehta & Rosato, 2001; Su *et al.*, 2011)，9 種寄主包含國內的梨以及及國外的葡萄、桑椹、李、核桃、無花果、夾竹桃、咖啡及柑橘等，對照菌株爲 *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* 菌株 (表 4)；基因體核酸抽取則參照 Sambrook 等人所建立的方法，測試菌株總量 DNA 則配製爲 10 ng/μl 以供後續試驗；16S rRNA 序列分析採用引子對 16S-F (5’-AGAG TTTGATCCTGGCTCAG-3’) /16S-R (5’-AAGGAGGTGATCCAGCC-3’)，PCR 反應物條件及增幅條件參照 Chen 氏等人所設計條件進行 PCR 反應聚合 (Chen *et al.*, 2000)，而 16-23S rRNA 分析 PCR 反應物條件參照 16S rRNA 反應條件，引子對爲 unil330：(5’-GTTCCCGGGCCTTGTACACAC -3’）/unil322：(5’-GGTTC

TTTTCGCCTTT CCCTC-3')，增幅條件則參照 Mehta 及 Rosato 所設計條件 (Mehta & Rosato, 2001)。PCR 反應所得 16S rRNA 及 16-23S rRNA 區間序列片段經由純化後，以轉殖套件 pOSI-T PCR Cloning kit 來進行 DNA 片段之轉殖。

表 4. 國內葡萄皮爾斯病菌與其他寄主植物 *X. fastidiosa* 菌株之來源

Table 4. Source of *Xylella fastidiosa*: Taiwanese Pierce's disease strains and strains of other hosts

Species/host or vector	Sthrain	GenBank accession no.		Source of reference
		16S rRNA	16-23S rRNA	
Xylella fastidiosa				
Grape(平林)	GV26	US	US	This Study
	GV61	US	US	This Study
(竹山)	GV14	US	US	This Study
	GV101	US	US	This Study
	GV102	US	US	This Study
(后里外埔)	GV78	US	US	This Study
	GV84	US	US	This Study
(新社白毛台)	GV18	US	US	This Study
	GV20	US	US	This Study
	GV93	US	US	This Study
(卓蘭)	GV63	US	US	This Study
	GV103	US	US	This Study
	ATCC35876	DQ991182	DQ991168	Su *et al.*, 2011
.	ATCC35879	DQ987477	DQ991169	Su *et al.*, 2011
Ampelopsis brevipedunculata	AB1	ND	US	This Study
	AB2	US	US	This Study
	AB3	US	US	This Study
Humulus scandens	HS2	US	US	This Study
	HS3	US	US	This Study
	HS4	US	US	This Study
Diplocyclos palmatus	DP1	US	US	This Study
	DP5	US	US	This Study
	DP10	US	US	This Study
Mallotus paniculatus	MP1	US	US	This Study
Kolla paulula	I-KP1	US	US	This Study
	I-KP2	US	US	This Study
	I09-940	US	ND	This Study
	I10-416	US	ND	This Study
Pear	PLS2	DQ987473	DQ991164	Su *et al.*, 2011
	PE.PLS	AF203392	AF203396	Mehta and Rosato, 2001
Citrus	CI.52	AF203389	AF203393	Mehta and Rosato, 2001
Coffee	CO.01	AF203390	AF203394	Mehta and Rosato, 2001
Grape	ATCC35876	DQ991182	DQ991168	Su *et al.*, 2011
.	ATCC35879	DQ987477	DQ991169	Su *et al.*, 2011
Mulberry	GHS 505	DQ991183	DQ991170	Su *et al.*, 2011
Oleander	GH-9	DQ991185	DQ991172	Su *et al.*, 2011
	Ol	DQ991186	DQ991173	Su *et al.*, 2011
Peach	4-5	DQ991187	DQ991174	Su *et al.*, 2011
Plum	2-4	DQ991188	DQ991175	Su *et al.*, 2011
Pecan	4BD2	DQ991190	DQ991177	Su *et al.*, 2011
Sycamore	SLS 55	DQ991193	DQ991180	Su *et al.*, 2011
Xanthomonas axonopodis pv. *citri*				
Citrus	XCW	DQ991194	DQ991181	Su *et al.*, 2011

ND: not determined; US: unsubmitted to GenBank.

抽取轉殖株的質體，並進行 PCR 及限制酵素切割確認轉殖片段後，將菌株送至明欣生物科技公司以自動定序儀進行定序。將定序所得之基因序列利用 Bioedit 軟體編輯，將刪除載體序列後的轉殖片段送至 NCBI 網站 (http://www.ncbi.nlm.nib.gov/) 進行 BLAST 比對，確認此序列是否爲 *X. fastidiosa* 菌株基因序列的相關序列。同時由 NCBI 網站下載其他寄主植物包括柑桔、梨及咖啡的 *X. fastidiosa* 菌株基因序列。將所有序列提交至歐洲生物資訊所 (EBI) 所提供的 clustal W2 網頁 (http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalw2/) 進行多序列比對。得到一致性序列後，經人工校正後將比對分析結果存爲 phylip 格式，再以 Phylip 3.69 版軟體中的程式以最大似然法 (Maximum Likelihood) 演算計算遺傳距離得到親緣樹狀圖，其中 *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* 被設定爲外群。同時也進行重複取樣 1000 次來統計 bootstrap 值，以檢驗親緣樹狀圖各分支的可信度。

各菌株 16S rRNA 的序列片段約爲 1528-1539 bp，長度的變化爲 11 bp。進一步對照序列比對結果，我們可以發現來自國內的 PD 葡萄、雜草寄主及蟲媒白邊大葉蟬菌系序列彼此間有 99-100% 相似度，與其他寄主的 *X. fastidiosa* 菌系的序列比較皆有 98-99% 相似度，而與作爲外群 *Xanthomonas axonopodis* pv. *citriu* 比較有 95% 相似度 (表 5)。由 16S rRNA 序列親緣樹狀圖的樹型與距離顯示：進一步由親緣樹狀圖可以發現 *X. fastidiosa* 不同地區寄主植物菌株可區分五個菌群，第一群爲葡萄與桑椹菌群；第二群爲咖啡與柑橘菌群；第三群菌株包含胡桃、李、桃及無花果菌群；第四群爲夾竹桃菌群及第五群爲梨菌群。而來自國內 PD 葡萄、雜草寄主及蟲媒菌系皆歸屬於 X. fastidiosa 菌群中的葡萄桑椹菌群 (圖 9)。

表 5. 國內葡萄皮爾斯病菌與其他寄主植物 *X. fastidiosa* 菌株之 16S rRNA 序列相似度比較

Table 5. Nucleotides similarities of 16S rRNA sequences of *Xylella fastidiosa* between Taiwanese Pierce's disease strains and strains of other hosts

Sthrains		相似度 (%)																																						
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39
GV14	1	100																																					
GV18	2	100	100																																				
GV20	3	100	100	100																																			
GV26	4	99	99	99	100																																		
GV61	5	99	99	99	99	100																																	
GV63	6	99	99	99	99	99	100																																
GV78	7	100	100	100	99	99	99	100																															
GV84	8	99	99	99	99	99	99	99	100																														
GV93	9	99	99	99	99	99	99	99	99	100																													
GV101	10	99	99	99	99	99	99	99	99	99	100																												
GV102	11	100	100	100	99	99	99	100	99	99	99	100																											
GV103	12	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	100																										
AB3	13	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	100																									
AB4	14	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	100																								
HS2	15	100	100	100	99	99	99	100	99	99	99	100	99	99	99	100																							
HS3	16	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	100																						
HS4	17	100	100	100	99	99	99	100	99	99	99	99	99	99	99	100	99	100																					
DP1	18	100	100	100	99	99	99	100	99	99	99	100	99	99	99	100	99	100	100																				
DP5	19	100	100	100	99	99	99	100	99	99	99	100	99	99	99	100	99	100	100	100																			
DP10	20	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	100																		
MJ1	21	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	100																	
I-KP1	22	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	100																
I-KP2	23	100	100	100	99	99	99	100	99	99	99	100	99	99	99	100	99	100	100	100	99	99	99	100															
I-09-940	24	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	100														
I-10-416	25	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	100													
ATCC35876	26	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	100												
ATCC35879	27	100	100	100	99	99	99	100	99	99	99	100	99	99	99	100	99	100	100	100	99	99	99	100	99	99	99	100											
GHS505	28	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	100										
2--4	29	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	100									
4--5	30	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	100								
ABD2	31	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	100							
SLS55	32	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	100						
CL52	33	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	100					
CO.01	34	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	100	100				
O1	35	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	100			
GH-9	36	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	100		
PLS2	37	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	100	
PE.PLS	38	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	99	100	
XCW	39	95	95	95	95	95	95	95	95	95	95	95	95	95	95	95	95	95	95	95	95	95	95	95	95	95	95	95	95	95	95	95	95	95	95	95	95	96	96	100

由於 16-23S rRNA 區間序列隨著演化過程會保留突變訊息，使得 16-23S rRNA 區間序列會有增長的現象，變異度也較高於 16S rRNA 序列。即使 16-23S rRNA 區間序列的片段約只有 511-540 bp，各序列長度上卻有 29 bp 的差別。國內的 PD 葡萄、雜草寄主及蟲媒白邊大葉蟬菌系序列彼此間有 99-100% 相似度，與其他寄主的 *X. fastidiosa* 的序列間比較有 97-100% 相似度，而與國內兩個梨葉緣焦枯病菌株的序列以及作爲外群 *Xanthomonas axonopodis* pv. *Citri* 的序列比較只有 84-87% 及 77-78% 相似度 (表 6)。親緣樹狀圖與 16S rRNA 有一致性的樹型，*X. fastidiosa* 不同地區寄主植物菌株亦可分爲五個菌群。國內 PD 葡萄、雜草寄主及蟲媒白邊大葉蟬菌系皆屬於 *X. fastidiosa* 菌群中的葡萄桑椹菌群 (圖 10)。由 16S rRNA 與 16-23S rRNA 區間序列親緣樹狀圖分析，國內各地 PD 葡萄、雜草寄主植物及白邊大葉蟬的菌株基因序列彼此間皆有 99-100% 相似度具同源性。配合人工交互接種試驗結果亦顯示兩者可互相感染，更佐證國內葡萄 PD 發生罹病園鄰近有本土性蟲媒存在，而且可以藉由雜草寄主植物存在而增加 PD 病害擴散的可能性。

表 6. 國內葡萄皮爾斯病菌與其他寄主植物 *X. fastidiosa* 菌株之 16 -23S rRNA 序列相似值比較

Table 6. Nucleotides similarities of 16S-23S rRNA intergenic space sequence of *Xylella fastidiosa* between Taiwanese Pierce's disease strains and strains of other hosts

Sthrains		相似度 (%)																																					
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38
GV14	1	100																																					
GV18	2	99	100																																				
GV20	3	99	99	100																																			
GV26	4	99	99	99	100																																		
GV61	5	99	99	99	100	100																																	
GV63	6	99	99	99	99	99	100																																
GV78	7	99	99	99	100	100	99	100																															
GV84	8	99	99	99	100	100	99	100	100																														
GV93	9	99	99	99	99	99	99	99	99	100																													
GV101	10	99	99	99	100	100	99	100	100	99	100																												
GV102	11	99	99	99	100	100	99	100	100	99	100	100																											
GV103	12	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	100																										
AB1	13	99	99	99	100	100	99	100	100	99	100	100	99	100																									
AB3	14	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	100																								
AB4	15	99	99	99	100	100	99	100	100	99	100	100	99	100	99	100																							
HS2	16	99	99	99	100	100	99	100	100	99	100	100	99	100	99	100	100																						
HS3	17	99	99	99	100	100	99	100	100	99	100	100	99	100	99	100	100	100																					
HS4	18	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	100																				
DP1	19	99	99	99	100	100	99	100	100	99	100	100	99	100	99	100	100	100	99	100																			
DP5	20	99	99	99	100	100	99	100	100	99	100	100	99	100	99	100	100	100	99	100	100																		
DP10	21	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	100																	
MJ1	22	99	99	99	100	100	99	100	100	99	100	100	99	100	99	100	100	100	99	100	100	99	100																
I-KP1	23	99	99	99	100	100	99	100	100	99	100	100	99	100	99	100	100	100	99	100	100	99	100	100															
I-KP2	24	99	99	99	100	100	99	100	100	99	100	100	99	100	99	100	100	100	99	100	100	99	100	100	100														
ATCC35876	25	99	99	99	100	100	99	100	100	99	100	100	99	100	99	100	100	100	99	100	100	99	100	100	100	100													
ATCC35879	26	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	100												
GHS505	27	99	99	99	100	100	99	100	100	99	100	100	99	100	99	100	100	100	99	100	100	99	100	100	100	100	99	100											
2--4	28	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	100										
4--5	29	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	100	100									
ABD2	30	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	99	98	100	100	100								
SLS55	31	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	100	100	100	100							
CI.52	32	97	97	97	98	98	97	98	98	97	98	98	97	98	97	98	98	98	97	98	98	97	98	98	98	98	98	98	99	99	99	99	100						
CO.01	33	97	97	97	98	98	97	98	98	97	98	98	97	98	97	98	98	98	97	98	98	97	98	98	98	98	99	98	99	99	99	99	100	100					
O1	34	98	98	98	99	99	98	99	99	98	99	99	98	99	98	99	99	99	98	99	99	98	99	99	99	99	99	99	98	98	98	98	97	97	100				
GH-9	35	98	98	98	99	99	98	99	99	98	99	99	98	99	98	99	99	99	98	99	99	98	99	99	99	99	99	99	98	98	98	98	97	97	99	100			
PLS2	36	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85	86	85	85	85	85	85	85	85	85	85	86	86	86	86	85	85	85	85	100		
PE.PLS	37	85	84	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85	87	85	85	85	85	85	85	85	99	100	
XCW	38	78	78	78	78	78	78	78	78	78	78	78	78	78	78	78	78	78	78	78	78	78	78	78	78	78	78	78	77	77	77	77	77	77	78	78	79	79	100

結 論

國內 PD 病害已確認在 10 個鄉鎮之葡萄產區發生，田間觀察顯示栽培之釀酒或鮮食品系皆能罹病，當年生或多年生之葡萄罹病植株在生育期

中期後 (葡萄果實轉色期) 葉片即能顯現典型之葉緣焦枯之病徵，田間罹病植株可觀察到初期部分枝條葉片表現病徵或後期嚴重發病呈現系統性感染，植株呈現樹勢衰弱甚至死亡之現象 (圖 11)，顯見其對葡萄植株產量之影響甚鉅；由歷年田間偵測到葡萄 PD 罹病園分布特性，大部分 PD 發生之葡萄產區爲丘陵地形坡地葡萄園，一年一收釀酒品種栽植園遠較一年二收鮮食品種栽植園罹病嚴重，顯見坡地葡萄園周遭雜林植被潛藏可能之雜草寄主植物或蟲媒有利於 PD 病原菌殘存或永續生存，但精緻栽培管理葡萄園可減緩 PD 發生蔓延；動植物防檢局過去 9 年執行官方鏟除 PD 罹病株減少感染源策略並於葡萄產區積極進行 PD 防疫宣導講習，確實在上述疫區有效監控 PD 發生同時未讓 PD 擴散蔓延至國內葡萄主要產區彰化地區，另過去並未偵測到國外已知之蟲媒種類存在於台灣，推測 PD 在台灣應無法達到嚴重流行之條件；但 4 種雜草寄主雙輪瓜、漢氏山葡萄、葎草及野桐屬白匏仔陸續被證實，文獻記載 PD 病害之病原菌寄主範圍廣，涵蓋 28 科 94 種植物，而其中許多可能爲無病徵寄主植物 (symptomless hosts)，一般認爲有些非作物寄主植物 (non-crop hosts) 可能爲引起 PD 之主要感染源，有潛能傳播病原至葡萄園，顯見國內葡萄產區 PD 病原菌有可能藉由非作物寄主植物永續生存，依據歷年田間蟲媒偵測調查結果計有 4 種木質部取食者昆蟲及 PD 罹病園罹病植株分布與鄰近偵測到雜草寄主似乎有地緣相關性，這些木質部取食者部分昆蟲種類初步證實爲 PD 病害自然傳播途徑角色；根據田間觀察通霄、外埔及后里 PD 嚴重發生葡萄產區，農友多自行扦插繁殖葡萄植株，常發生扦插率低之情形及延遲萌芽之現象，甚至可見半年生之扦插植株罹病顯現典型系統性葉緣焦枯之病徵，推斷 PD 可能早在當地危害多年？過去在人爲扦插繁殖及不知情狀況下移動罹病苗木傳播途徑確實會助長 PD 在該地區蔓延發生；目前國內葡萄產區之大部分農友對本病之生態學基本資料仍不甚清楚？茲提幾點淺見供國內葡萄 PD 防疫策略擬定之參考。

(一) PD 公告後應持需進行官方監控並有限度劃定疫區徹底執行相關防疫措施，才能減緩 PD 對國內葡萄產業衝擊，維繫優質葡萄產業永續發展。

(二) 在非 PD 疫區的葡萄產區，必需防範與管制自罹病的葡萄果園取用嫁接枝條，以避免罹病枝穗、帶菌種苗植物及媒介昆蟲傳入產區。

(三) 透過農友講習會全面性宣導，讓農友完全清楚 PD 之生態學基本資料及葡萄產業衝擊之嚴重性，並掌握住適當之調查時機及田間診斷要領，由農友自行標定園內 PD 之罹病株，自發性鏟除罹病株及周邊雜草寄主植物，才能更有效撲滅國內葡萄產區 PD 之感染源。

(四) 未來積極防杜國外已知之蟲媒入侵，國內 PD 寄主範圍植物及本土性之蟲媒之偵測調查應持續進行並深入探討兩者在 PD 流行病學所扮演角色。

誌 謝

本文係作者等執行農委會防檢局歷年來的「葡萄新病害緊急調查 (計畫編號：92 管理-3.2-植防-02(4-2), 93 管理-3.1-植防-5(1), 94 救助調整-檢-01)」與「加入世貿組織強化植物有害生物防範措施 (計畫編號：公務-1.2-植防-02(4-3), 95 救助調整-檢-01, 96 救助調整-檢-01, 97 救助調整-檢-01, 98 救助調整-檢-01, 99 救助調整-檢-01, 100 救助調整-檢-01)」之研究成果；在葉蟬分類研究部分，則承國科會補助「葉蟬塗抹與梳刷行爲於葉蟬科高階分類之應用」(計畫編號：NSC 98-2313-B-055 -006 -MY3) 計畫經費。作者謹此表達誌謝。

引用文獻

林嘉興。2004。葡萄產業沿革與栽培技術之發展。葡萄栽培技術研討會專集。台中區農業改良場特刊第 67 號 p.9-22。

楚燕杰。2001。葡萄皮爾斯病及防治技術。煙台果樹 4 :11-12。

Aguilar, E., L. Moreira, and C. Rivera. 2008. Confirmation of *Xylella fastidiosa* infecting grapes *Vitis vinifera* in Costa Rica. Trop. Plant Pathol. 33: 444-448.

Berisha, B., Chen, Y. D., Zhand, G. Y., and Chen, T. A. 1998. Isolation of Pierce’s disease bacteria from grapevines in Europe. Eur. J. Plant Pathol. 104: 427-433.

Blua, M. J., P. A. Phillips, and R. A. Redak. 1999. A new sharpshooter threatens both crops and ornamentals. Calif. Agric. 53: 22-25.

Chen, C. C., L. J. Teng, and T. C. Chang. 2004. Identification of clinically relevant viridan s group streptococci by sequence analysis of the 16S-23S ribosomal DNA spacer region. J. Clin. Microbiol. 42: 2651-2657.

Chen, J., J. S. Hartung, C. J. Chang, and A. K. Vidaver. 2002. An evolutionary perspective of Pierce's disease of grapevine, citrus variegated chlorosis, and mulberry leaf scorch diseases. Curr. Microbiol. 45: 423-428.

Chen, J., C. J. Chang, R. L. Jarret, and L. Gawel. 1992. Genetic variation among *Xylella fastidiosa* strains. Phytopathology 82: 973-977.

Chen. J., D. Bank, R. L. Jarret, C. J. Chang, and B. J. Smith. 2000. Use of 16S rDNA sequences as signature characters to identify *Xylella fastidiosa*. Curr. Microbiol. 40: 29-33.

Freitag, J. H. 1951. Host range of Pierce’s disease virus of grapes as determined by insect transmission. Phytopathology 41: 920-934.

Hauben, L., L. Vauterin, J. Swings, and E. R. B. Moore. 1997. Comparison of 16S ribosomal DNA sequences of all *Xanthomonas* species. Int. J. Syst. Bacteriol. 47: 328-335.

Hendson, M., A. H. Purcell, D. Chen, C. Smart, M. Guilhabert, and B. Kirkpatrick. 2001. Genetic diversity of Pierce's disease strains and other pathotypes of *Xylella fastidiosa*. Appl. Environ. Microbiol. 67: 895-903.

Hernandez-Martinez, R., de la Cerda, K., H. S. Costa, D. A. Cooksey, and F. P. Wong. 2007. Phylogenetic relationships of *Xylella fastidiosa* strains isolated from landscape ornamentals in southern California. Phytopathology 97: 857-86.

Hewitt, W. B., B. R. Houston, N. W. Frazier, and J. H. Freitag. 1946. Leafhopper

transmission of the virus causing Pierce's disease of grape and dwarf of alfalfa. Phytopathology 36: 117-128.

Hillis, M. D., and M. T. Dixon. 1991. Ribosomal DNA: molecular evolution and phylogenetic inference. Quart. Rev. Bio. 66: 411-453.

Hill, B. L., and A. H. Purcell. 1995. Multiplication and movement of *Xylella fastidiosa* within grapevine and four other plants. Phytopathology 85: 1368-1372.

Hopkins, D. L. 1989. *Xylella fastidiosa*: xylem-limited bacterial pathogen of plants. Ann. Rev. Phytopathol. 27: 271-290.

Hopkins. D. L. 2001. Pierce's disease. *In:Encyclopaedia of Plant Pathology Volume II,* Maloy, O. C. and Murray, T. D.(eds), John Wiley and Sone Inc., New York, pp71-772.

Hopkins, D. L., and W. C. Adlerz. 1988. Natural hosts of *Xylella fastidiosa* in Florida. Plant Dis. 72: 492-431.

Hopkins, D. L., and A. H. Purcell. 2002. *Xylella fastidiosa*: cause of Pierce's disease of grapevine and other emergent diseases. Plant Dis. 86: 1056-1066.

Hoddle, M. S., S. V. Triapitsyn, and D. J. W. Morgan. 2003. Distribution and plant association records for *Homalodisca coagulata* (Hemiptera: Cicadellidae) in Florida. Fla. Entomol. 86: 89-91.

Jimenez, A. 1985. Immunological evidence of Pierce's disease of grapevine in Venezuela. Turrialba 35: 243-247.

Mehta, A., and Y. B. Rosato. 2001. Phylogenetic relationships of *Xylella fastidiosa* strains from different hosts, based on 16S rRNA and 16-23S intergenic spacer sequences. Int. .J Syst. Evol. Microbiol. 51: 311-318.

Minsavage, G. V., C. M. Thompson, D. L. Hopkins, R. M. V. B. C. Leite, and R. E. Stall. 1994. Development of polymerase chain reaction protocol for detection of Xylella fastidiosa in plant tissue. Phytopathology 84: 456-461.

Nome, S. F., R. M. Haelterman, D. M. Docampo, A. G. Prataviera, and L.V. Di Feo. 1992. Escaldadura de las hojas del almendro en Argentina. Fitopatol. Bras. 17: 57-60.

Perez-Luz, S., Y. M. Adela, and V. Catalan. 2004. Identification of waterborne bacteria by the analysis of 16S-23S rRNA intergenic spacer region. J. Appl. Microbiol. 97 : 191-204.

Pooler, M. R., and J. S. Hartung. 1995. Genetic relationships among strains of *Xylella fastidiosa* from RAPD-PCR data. Curr. Microbiol. 31: 134-137.

Pooler, M. R., and J. S. Hartung. 1995. Specific PCR detection and identification of *Xylella fastidiosa* strains causing citrus variegated chlorosis. Curr. Microbiol. 31: 377-381.

Purcell, A. H. 1977. Cold therapy of Pierce's disease of grapevines. Plant Dis. Rep. 61: 514-519.

Purcell, A. H. 1980b. Almond leaf scorch:leafhopper and spittle bug vectors. J. Eco. Entomol. 73(6): 834-838.

Purcell, A. H. 1997. *Xylella fastidiosa*, a regional problem or global threat? J. Plant Pathol. 79(2): 99-105.

Purcell, A. H. 2000. Glassy-winged sharpshooter (Homalodisca coagulata).

http://nature.berkeley.edu/xylella/oss.html

Purcell, A. H., and D. L. Hopkins. 1996. Fastidious xylem-limited bacterial plant pathogens. Ann. Rev. Phytopathol. 34: 131-151.

Purcell, A. H., and S. R. Saunders. 1999b. Fate of Pierce's disease strains of *Xylella fastidiosa* in common riparian plants in California. Plant Dis. 83: 825-830.

Purcell, A. H., and S. R. Saunders. 1995 Harvested grape clusters as inoculum for Pierce's disease. Plant Dis. 79: 190-192.

Qin, X., V. S. Miranda, M. A. Machado, E. G. M. Lemos, and J. S. Hartung. 2001. An evaluation of the genetic diversity of *Xylella fastidiosa* isolated from diseased citrus and coffee in São Paulo, Brazil. Phytopathology 91: 599-605.

Raju, B. C., A. C. Goheen, and N. W. Frazier. 1983. Occurrence of Pierce's disease bacteria in plants and vectors in California. Phytopathology 73: 1309-1313.

Randall, J. J., N. P. Goldberg, J. D. Kemp, M. Radionenko, J. M. French, M. W. Olsen, and S. F. Hanson. 2009. Genetic analysis of a novel *Xylella fastidiosa* subspecies found in the southwestern United States. Appl. Environ. Microbiol. 75: 5631-5638.

Redak, R. A., A. H. Purcell, J. R. S. Lopes, M. J. Blua, R. F. Mizell III, and P. C. Andersen. 2004. The biology of xylem fluid-feeding insect vectors of *Xylella fastidiosa* and their relation to disease epidemiology. Annu. Rev. Entomol. 49: 243-270.

Rosato, Y. B., J. B. Neto, V. S. Miranda, E. F. Carlos, and C. P. Manfio. 1998. Diversity of a *Xylella fastidiosa* population isolated from *Citrus sinensis* affected by citrus variegated chlorosis in Brazil. Syst. Appl. Microbiol. 21: 593-598.

Sambrook, J., E. F. Fritsch, and T. Maniatis. 1989. Molecular cloning: A laboratory manual. 2nd edition. (Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press)

Schaad, N. W., E. Postnikova, G. Lacy, M. Fatmi, and C. J. Chang. 2004. *Xylella fastidiosa* subspecies: *X. fastidiosa* subsp. *piercei*, subsp. nov., *X. fastidiosa* subsp. *multiplex* subsp. nov., *X. fastidiosa* subsp. *multiplex* subsp. nov., and *X. fastidiosa* subsp. *pauca* subsp. nov. Syst. Appl. Microbiol. 27: 290-300.

Shih, H. T., C. H. Dietrich, and J. T. Yang. 2004. Use of vineyards as habitats by leafhoppers (Insecta: Hemiptera: Cicadelloidea) in central Taiwan. Plant Prot. Bull. 45: 405- 406.

Shih, H. T., C. C. Su, C. Y. Feng, C. C. Fanjiang, W. F. Hung, and L. Y. Hung. 2009. Studies on the morphology, ecology, and host range for *Kolla paulula* (Walker, 1858) (Hemiptera: Membracoidea: Cicadellidae: Cicadellinae). Formosan Entomol. 29: 353.

Smith, I. M., D. G. McNamara, P. R. Scott, and K. M. Harris. 1997. *Xylella fastidiosa. In:Quarantine Pests for Europe*, CAB International, Wallingford, UK, pp845-851.

Stackebrandt, E., and B. M. Goebel. 1994. Taxonomic note: a place for DNA-DNA reassociation and 16S rRNA Sequence analysis in the present species definition in bacteriology. Int. Syst. Bacteriol. 44: 846-849

Su , C. C., C. J. Chang, W. J. Yang, S. T. Hsu, K. C. Tzeng, F. J. Jan, and W. L. Deng. 2011. Specific characters of 16S rRNA gene and 16S-23S rRNA internal

transcribed spacer sequences of *Xylella fastidiosa* pear leaf scorch strains. Eur. J. Plant Pathol. (Accepted)

Vandamme, P., B. Pot, M. Gillis, P. de Vos, K. Kersters, and J. Swings. 1996. Polyphasic taxonomy, a consensus approach to bacterial systematics. Microbiol. Rev. 60: 407-438.

Varela, L. G., A. H. Purcell, and R. J. Smith. 2000. University of California Cooperative Extension and Statewide IPM Project, Pierce’s Disease in the North Coast. http://www.cnr.berkeley.edu/xylella/pd97.html

Wells, J. M., B. C. Raju, H. Y. Hung, W. G. Weisburg, L. Mandelco-Paul, and D. J. Brenner. 1987. *Xylella fastidiosa* gen. nov., sp. nov: Gram-negative, xylem-limited, fastidious plant bacteria related to Xanthomonas spp. Int. J. Sys. Bacteriol. 37: 136-143.

Current status of Pierce's disease of grape and its vector in Taiwan

Chiou-Chu Su[1,3], Hsien-Tzung Shih[2,4], Ying-Shiou Lin[1], Wen-Ying Su[1], and Ching-Wen Kao[1]

[1] Taiwan Agricultural Chemicals And Toxic Substance Research Institute, Council of Agriculture, Executive Yuan, Wu-feng , Taichung 413, Taiwan, ROC.
[2] Applied Zoology Division, Taiwan Agricultural Research Institute, Council of Agriculture, Taichung, Taiwan, ROC.
[3] Disease corresponding author, e-mail: auba@tactri.gov.tw
[4] Insect pest corresponding author, e-mail: htshih@tari.gov.tw

Abstract

There is no record of Pierce's disease (PD) of grapes incidence in Taiwan, even though PD of grapes caused by *Xylella fastidiosa,* a xylem-limited bacterium, has been listed as one of the international quarantine plant diseases. In 2002, the Bureau of Animal and Plant Health Inspection and Quarantine launched a survey project to find out if PD occurs in Taiwan. By using isolations and PCR protocols, a total of 12023 grapevines were confirmed to be infected by *X. fastidiosa* and hence eradicated. Other than grapes, the following four plants were confirmed to be the alternative hosts of PD strains: *Diplocyclos palmatus* (L.) C. Jeffrey, *Ampelopsis brevipedunculata* (Maxim.) Trautv var. *hancei* (Planch.) Render, *Humulus scandens* (Lour.) Merr., and *Mallotus paniculatus* (Lam.) Muell. -Arg. In the search of insect vectors for PD strains dissemination in Taiwan, *Kolla paulula* (Walker) was confirmed to be the vector by the fulfillment of Koch's postulates. Over the years, survey results indicated that there are no foreign reportedly known vectors in Taiwan. PD strains including originally isolated from tissues of grapes showing PD symptoms collected from around the country, from vector *Kolla paulula*, and from tissues of 4 alternative hosts were compared with pear leaf scorch strains and strains of foreign origins from grapes, mulberry, plum, pecan, sycamore, and oleander by sequence analyses of 16S rRNA and 16S-23S rRNA internal transcribed spacer region (ITS). The phylogenetic trees constructed by Maximum Likelihood revealed that *X. fastidiosa* strains from different hosts could be divided into the following five subgroups: (1) grape and mulberry strains, (2) citrus and coffee strains, (3) pecan, peach, plum and sycamore strains, (4) oleander strains and (5) pear strains. The similarity index of all Taiwanese's PD strains including the above-mentioned three various sources were both 99-100% based on 16S rRNA and 16S-23S rRNA ITS region. The homology of Taiwanese's PD strains placed them in line with the subgroup of grape and mulberry. The urgent prevention of importing foreign proven vectors via nursery stocks will be critical in disease control. The continuing efforts on the identification of alternative hosts and their relationships with local vectors warrant further attentions for the understanding of the epidemiology of PD diseases in Taiwan.

Keywords: Pierce's disease of grapes, *Xylella fastidiosa*, alternative hosts, vector

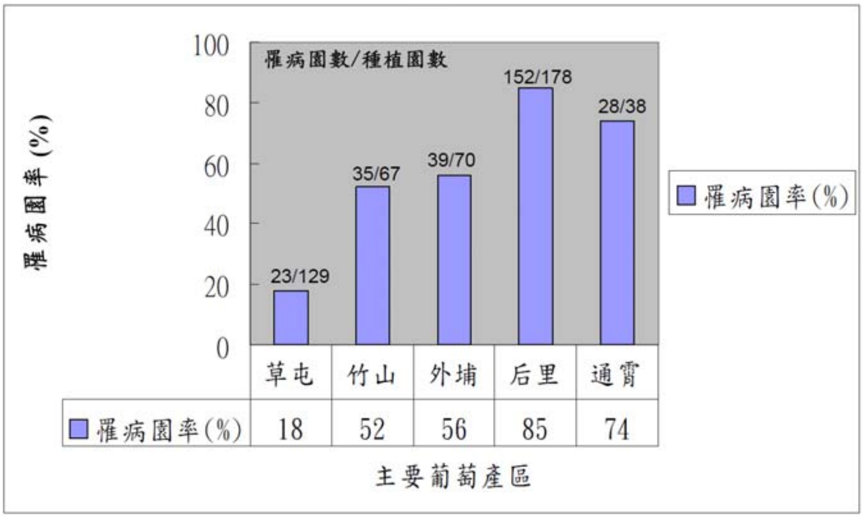

圖 1. 自 91-99 年調查台灣主要葡萄產區葡萄皮爾斯病的罹病園率。
Fig. 1. Percentage of grape orchards with confirmed Pierce's disease incidence in major grape production counties conducted from 2002 to 2010.

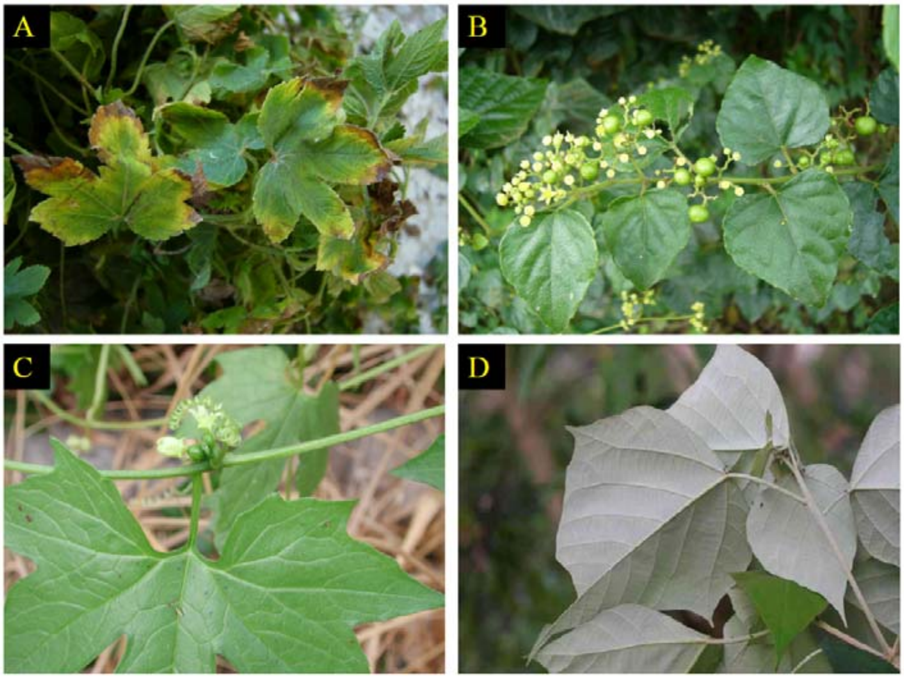

圖 2. 台灣已經證實爲葡萄皮爾斯病的四種植物：(A) 葎草 (Humulus scandens (Lour.) Merr.); (B) 漢氏山葡萄 (Ampelopsis brevipedunculata (Maxim.) Trautv var. hancei (Planch.) Render); (C) 雙輪瓜 (Diplocyclos palmatus (L.) C. Jeffrey); (D) 白匏仔 (Mallotus paniculatus (Lam.) Muell. -Arg.)。
Fig.2. Four alternative hosts of Xylella fastidiosa Pierce's disease strains: (A) Humulus scandens (Lour.) Merr.; (B) Ampelopsis brevipedunculata (Maxim.) Trautv var. hancei (Planch.) Render; (C) Diplocyclos palmatus (L.) C. Jeffrey; (D) *Mallotus paniculatus* (Lam.) Muell. -Arg.

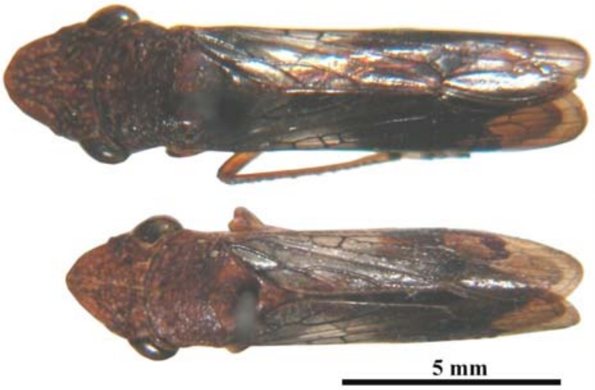

圖 3. 褐透翅尖頭葉蟬 (Homalodisca vitripennis)：成蟲。(圖：石憲宗)
Fig. 3. Homalodisca vitripennis, adult. (Photo by H. T. Shih)

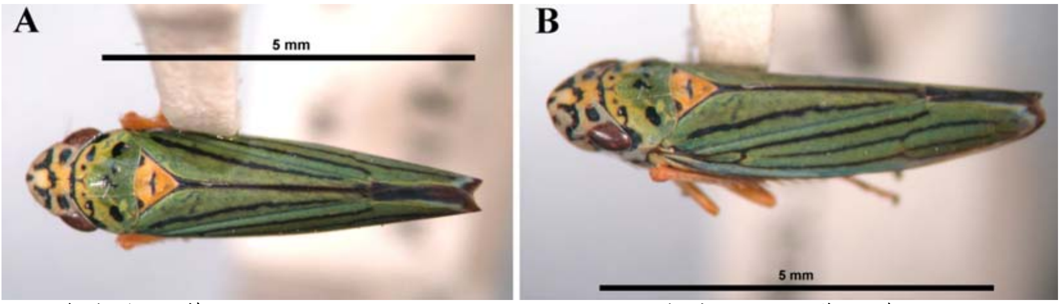

圖 4. 藍綠尖頭葉蟬 (Graphocephala atropunctata) 成蟲：(A) 背面觀；(B) 側面觀。(圖：石憲宗)
Fig. 4. Graphocephala atropunctata, adult: dorsal view (A), lateral view (B). (Photos by H. T. Shih)

圖 5. 綠尖頭葉蟬 (Draeculacephala minerva) 成蟲：(A) 背面觀；(B) 側面觀。(圖：石憲宗)
Fig. 5. Draeculacephala Minerva, adult: dorsal view (A), lateral view (B). (Photos by H. T. Shih)

圖 6. 黃頭長沫蟬 (Philaenus spumarius (Linnaeus)) 成蟲背面觀。(圖：石憲宗)
Fig. 6. Adult of Philaenus spumarius: dorsal view. (Photo by H. T. Shih)

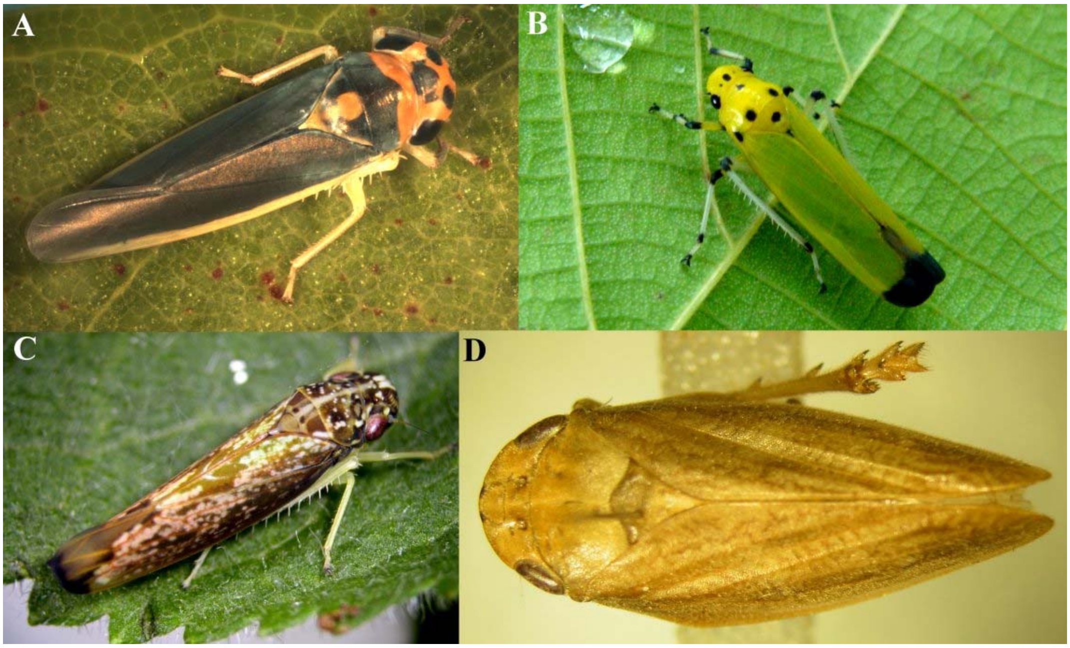

圖 7. 台灣葡萄園 PD 罹病樣區的媒介昆蟲 (A) 或具傳病潛力的媒介昆蟲 (C-D)：A. 白邊大葉蟬 (Kolla paulula)；B. 黑尾大葉蟬 (Bothrogonia ferruginea)；C. 縱脈斑大葉蟬 (Anatkina horishana)；D. 嗜菊短頭脊沫蟬 (Poophilus costalis)。(圖 A：洪婉芳；圖 B-D：石憲宗)。
Fig. 7. Confirmed vector (A) and potential vectors (B-D) of Pierce's disease of grape in Taiwan: A, Kolla paulula; B, Bothrogonia ferruginea; C, Anatkina horishana; D, Poophilus costalis. (Photos: A, by W. F. Hung; B-D by H. T. Shih)

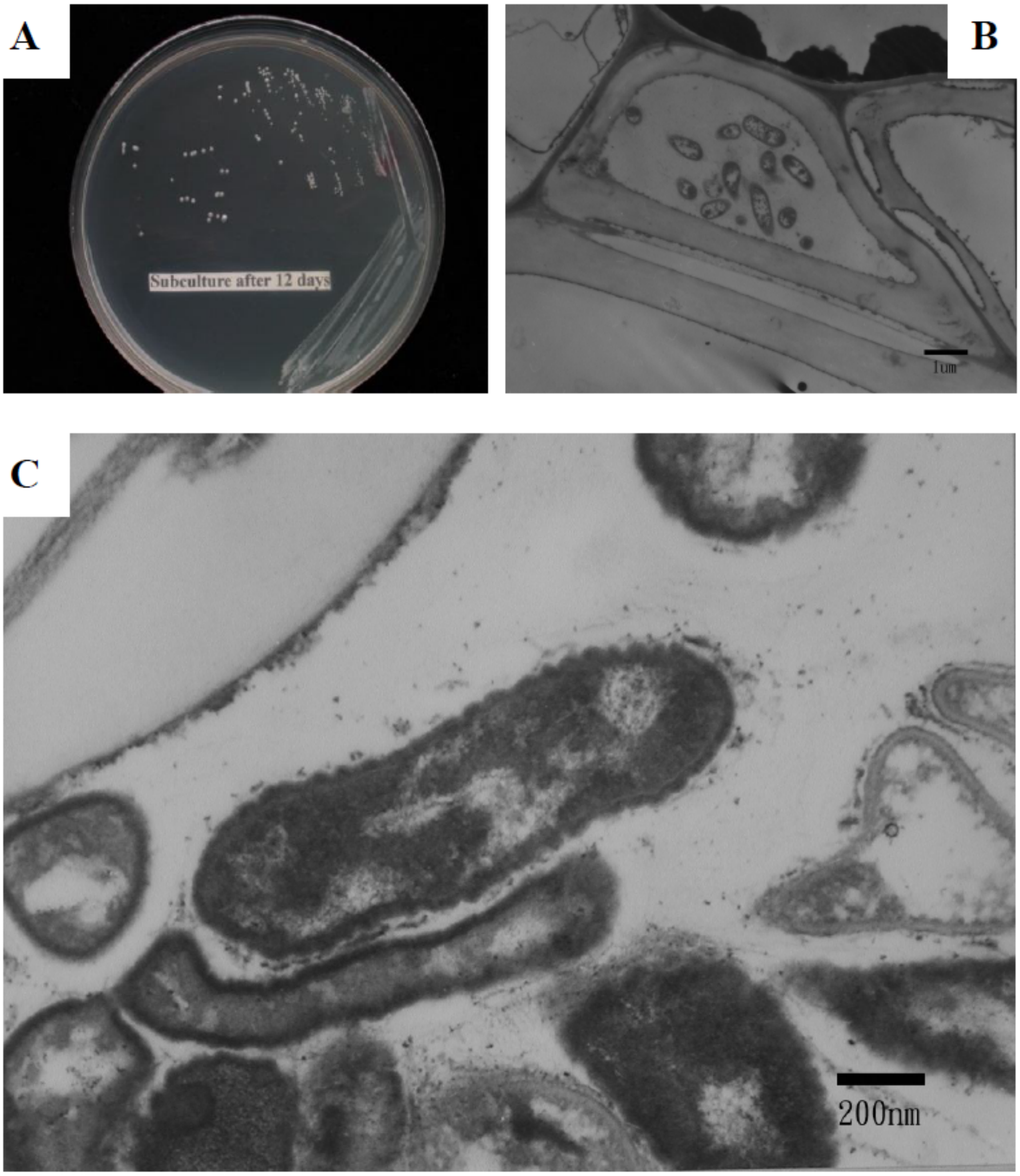

圖 8. 葡萄皮爾斯病菌於 PD2 平板培養之菌落型態 (A)，罹病組織電顯觀察細菌棲息於導管內 (B)，細菌具有明顯波浪狀細胞壁 (C)。

Fig. 8. Colony of Pierce's disease strains subcultured in PD2 plate (A), cells of Xylella fastidiosa in xylem vessel of diseased grape tissue observed with a TEM (B), cells of Xylella fastidiosa with rippled cell walls (C).

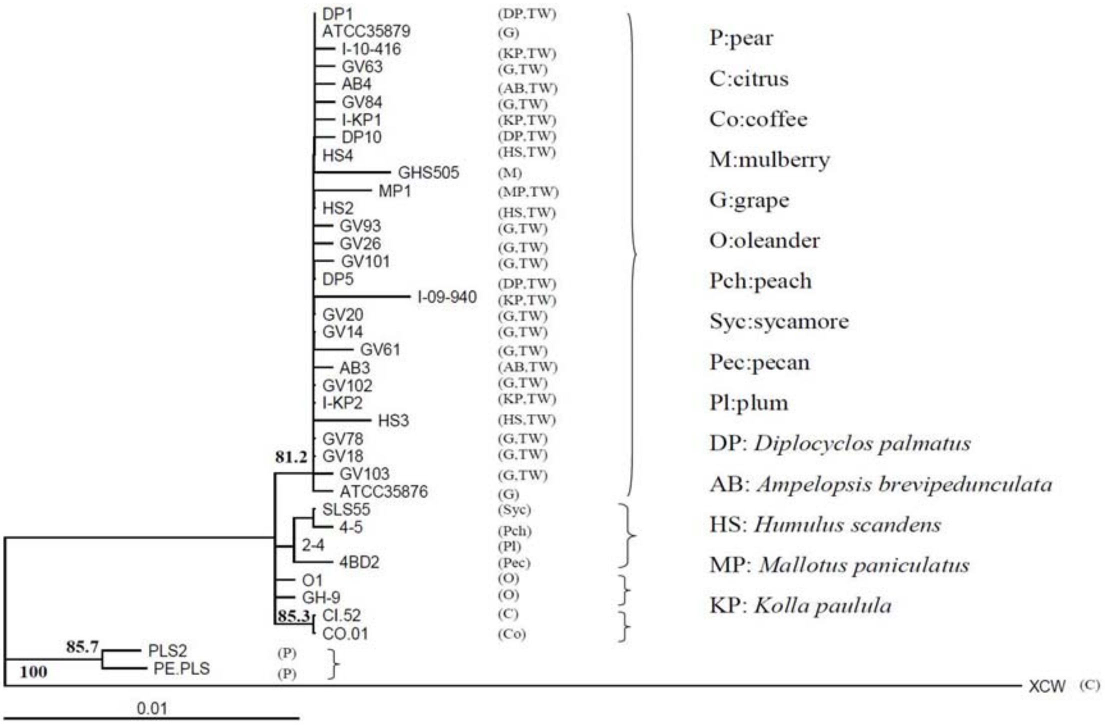

圖 9. 國內葡萄皮爾斯病菌與其他寄主植物 X. fastidiosa 菌株之 16S rRNA 序列，經由最大似然法 (Maximum Likelihood) 分析親緣演化樹；枝條上的數字代表 bootstrap 值，僅標示高於 70 的 bootstrap 值。圖中尺標表示 DNA 序列置換的比例。

Fig. 9. A phylogenetic tree constructed with the Maximum Likelihood method based on the 16S rRNA sequence of Xylella fastidiosa Taiwanese Pierce's disease strains and strains of other hosts. The numbers indicate the level of bootstrap support (percentage) based on 1000 re-sampled data sets (only when values are greater than 70%).The scale bar represents sequence divergence.

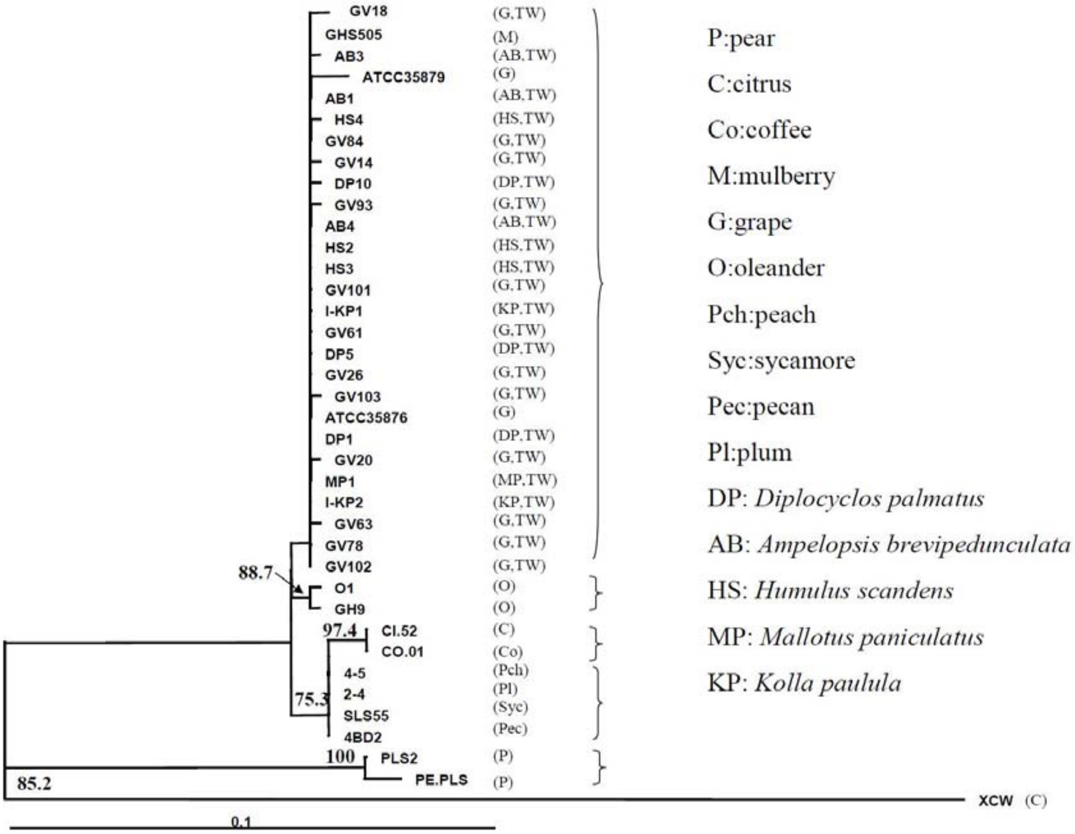

圖 10. 國內葡萄皮爾斯病菌與其他寄主植物 X. fastidiosa 菌株之 16-23S rRNA 序列，經由最大似然法 (Maximum Likelihood) 分析親緣演化樹。枝條上的數字代表 bootstrap 值，僅標示高於 70 的 bootstrap 值。圖中尺標表示 DNA 序列置換的比例。

Fig. 10. A phylogenetic tree constructed with Maximum Likelihood method based on the 16S-23S rRNA intergenic space sequence of Xylella fastidiosa Taiwanese Pierce's disease strains and strains of other hosts. The numbers indicate the level of bootstrap support (percentage) based on 1000 re-sampled data sets (only when values are greater than 70%).The scale bar represents sequence divergence.

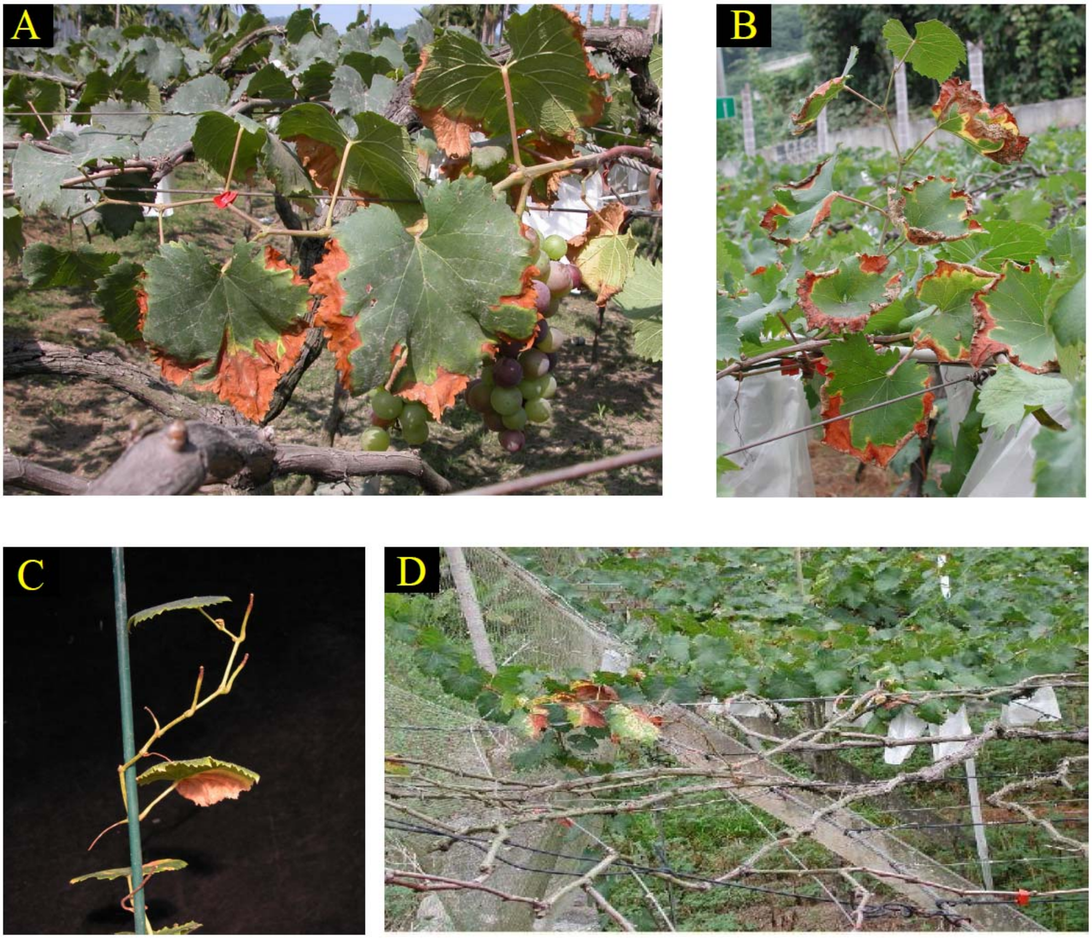

圖 11. 葡萄皮爾斯病的病徵。(A) 葡萄果實轉色期自枝條下位葉顯現典型葉緣焦枯病徵。(B) 枝條葉片系統性葉緣焦枯病徵。(C) 罹病枝條葉片提早落葉但葉柄暫留在枝條上。(D) 罹病葡萄植株呈現樹勢衰弱枯死現象。

Fig. 11. Symptoms of Pierce's disease of grape: typical symptom of leaf scorch starting from the basal leaves of cane during the fruit color change stage (A), systemic symptoms of leaf scorch progressing along the whole cane (B), early leaf drop with petioles remain attached to the cane (C), and decline in vigour and dieback of diseased grape (D).